

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO
Campus Baixada Santista

SAMILE AMORIM DOS SANTOS

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM
VITAMINA E SOBRE A FUNÇÃO IMUNE
DURANTE EXERCÍCIOS AGUDOS EM
ELEVADA ALTITUDE SIMULADA**

Santos
2011

SAMILE AMORIM DOS SANTOS

FEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM VITAMINA E SOBRE A FUNÇÃO IMUNE DURANTE EXERCÍCIOS AGUDOS EM ELEVADA ALTITUDE SIMULADA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Universidade Federal de São Paulo como parte dos
requisitos curriculares para obtenção do título de bacharel
em Educação Física – Modalidade Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Ronaldo Vagner Thomatieli dos Santos

Santos
2011

Samile Amorim dos Santos

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM
VITAMINA E SOBRE A FUNÇÃO IMUNE
DURANTE EXERCÍCIOS AGUDOS EM
ELEVADA ALTITUDE**

Este exemplar corresponde a redação final do trabalho de Conclusão de Curso defendido por Samile Amorim dos Santos e aprovado pela Banca Examinadora em 05/12/2011.

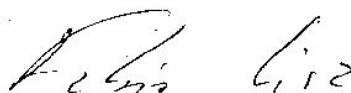
Orientador:

Prof. Dr. Ronaldo Vagner Thomatieli dos Santos

Santos
2011

Banca Examinadora

Prof. Dr. Ronaldo Vagner Thomatieli dos Santos
Orientador



Prof. Dr. Fabio Santos Lira



Prof. Dr. João Paulo Botero

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, pela permissão de realizar esse curso e concretizar um sonho, e segundo a minha avó “*in memoriam*” e ao meu avô pelo exemplo de coragem, simplicidade e por me ajudar a chegar onde eu estou.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente ao Deus único, o qual me escolheu antes dos tempos eternos, enviou o Seu único Filho para morrer em meu favor, selou-me com o Seu Espírito e me separou.

A Ele toda a honra e toda a glória!

*Agradeço aos meus familiares, em especial a minha mãe e aos meus irmãos,
a que devo parte do que sou.*

*Ao meu noivo, Fabio, pelo apoio pela compreensão nos momentos de ausência prolongada,
sem perder admiração pelo meu trabalho. Pelo amor, confiança que foram elementos
essenciais para consolidação do nosso relacionamento.*

*As amigas de apartamento que aguentaram a minha bagunça e pelos inúmeros momentos
agradáveis, fazendo dos meus dias verdadeiras obras-primas, a Beth, Amandinha, Naty,
Mari, Rê, Tati, Liv, Van, e em especial a Mimuz, que não me abandonou e escolheu curtir os
últimos meses deste sonho ao meu lado (muito obrigada amiga)!*

*A os funcionários da Universidade em especial os da Biblioteca que fizeram deste momento
uma descontração.*

*A turma Educa 03 com “T” maiúsculo, pelos quatro anos de felicidade, honrando o nome da
universidade.*

*Agradeço aos professores da Universidade que foram verdadeiros doutores. Que além de
doutores foram amigos, e que na amizade, me ajudou e incentivou a seguir o meu caminho.*

*Aos funcionários do Centro de Estudo em Psicobiologia e Exercício, em especial o Eduardo
Alves que muito me ajudou.*

Ao Professor Dr. Fabio Lira, pois me deu total apoio e suporte para finalizar esse estudo.

Ao Cnpq/PIBIC pela concessão da bolsa para seguimento deste trabalho.

Aos Voluntários que se propuseram a participar usando seu tempo para realizar os todos os protocolos.

Ao Edgard, Jor e Sarinha que juntos aprendemos e demos os passos iniciais para este trabalho.

A Professora Doutora Hanna Karen que teve paciência e muito me incentivou neste projeto.

Antes de chegar ao tema no qual ia pesquisar a opinião de algumas pessoas foi fundamental para que eu me decidisse a realizar a pesquisa. Não posso deixar de agradecer aquele que me acompanhou desde os primeiros passos deste trabalho Ronaldo Thomatieli. Ele me ajudou a olhar mais fundo naquilo que eu vira e ouvira, ampliando meus horizontes teóricos e práticos. Obrigada pela oportunidade de auxiliar no meu crescimento pessoal e profissional, pela orientação incentivo e amizade.

Enfim, a todos aqueles que direto ou indiretamente contribuíram para que este trabalho chegasse ao fim, os meus mais profundos agradecimentos.

“Porque onde estiver o vosso tesouro, aí estará também o vosso coração.”

(Mateus 6:21)

RESUMO

Elevadas altitudes são um grande desafio para a humanidade e para a fisiologia do exercício. A hipóxia nas grandes altitudes é a explicação para a dificuldade em realizar o exercício nestas condições, dificuldade essa também ao estresse oxidativo em hipóxia. Como consequência o organismo induz várias modificações incluindo a imunossupressão. Ao nível do mar a piora da resposta imune induzida pelo exercício pode ser amenizada pela suplementação com vitamina E. Desta forma esse estudo teve por objetivo avaliar os efeitos da suplementação com vitamina E (250mg) sobre parâmetros do sistema imunológico após um exercício realizado em hipóxia simulando altitude de 4200m. Para isso os voluntários foram submetidos a três sessões de exercício agudo, um exercício realizado ao nível do mar, um exercício realizado em altitude simulada, e outro também em altitude simulada porém com suplementação de vitamina E. Antes e imediatamente após as sessões de exercício foram coletados 10 ml de sangue para as dosagens plasmáticas. Os resultados encontrados demonstram que a suplementação com vitamina E foi suficiente para uma proteção do sistema imunológico contra os efeitos estressores da hipóxia e do exercício físico. Com relação a IL-6 foi observado que a suplementação com vitamina E foi capaz de significativamente diminuir as concentrações de IL-6 durante o exercício e uma hora após o exercício físico quando comparado com a condição de normóxia ($p < 0,05$). A IL-1ra, no teste em hipóxia com suplementação de vitamina E não elevou seus níveis, ao contrário do exercício em hipóxia sem suplementação ($p < 0,05$) indicando um papel importante da vitamina E em prol do sistema imunológico. Já a IL-2 observou-se aumento em sua concentração após uma hora após a realização do exercício físico em hipóxia com suplementação de vitamina E.

Palavras chave - Exercício físico; Altitude; Vitamina E; Sistema Imune.

ABSTRACT

High altitudes are big challenges to humanity and to exercise physiology. The hypoxia from high altitude is the explanation for these difficulties since it represents an additional stress to the body beyond that caused by acute physical exercise because oxidative stress and Reactive Oxygen Species production. So acute physical exercises induces various biochemical and physiological responses with high power immunosuppressive. At sea level one of the possible ways to decrease the effects of exercise on the immune system is through supplementation with vitamin E therefore it is an antioxidant molecule. So this study objective was to verify the effects of supplementation with vitamin E (250mg) on parameters of immune system after an exercise held in hypoxia. So volunteers underwent three acute exercise sessions, and two tests simulating the altitude of 4200m with and without supplementation. Before, immediately after exercise sessions and 1 hour of rest were collected 10 ml of blood plasma levels. The results found show that supplementation with vitamin E was enough to an immune system protection against the effects of hypoxia stressors and physical exercise. With respect to IL-6 has been observed that supplementation with vitamin E was able to significantly decrease the levels of IL-6 after exercise and one hour after exercise when compared with the normoxia ($p < 0.05$) even in hypoxia situation. The IL-1ra, testing in hypoxia with vitamin E supplementation did not raised their levels ($p < 0.05$) indicating an important role of this vitamin in favor of the immune system. Already the IL-2 observed increase in its concentration after one hour after the completion of physical exercise on hypoxia with vitamin E supplementation.

Keywords: Altitude, physical exercise, Hypoxia, supplementation, immune system, vitamin E.

LISTA DE ABREVIATURAS DE SIGLAS

CEP - Comitê de Ética em pesquisa
DP - Desvio Padrão
ERO's – Espécies Reativa de Oxigênio
EPM - Média Padrão
EPO - Eritropoetina
FC – Frequência Cardíaca
GPX - Glutathione Peroxidase
Hr - Hora
IL-2 - Interleucina 2
IL-1 - Interleucina 1
IL-6 - Interleucina 6
IL-1 β - Interleucina 1
IL-1ra - Interleucina 1ra (Receptor Antagonista IL-1)
IR - Isquemia/Reperusão
Km- Quilômetro
L - Litro
L1 – Limiar Ventilatório 1
M - Minuto
NADPH - Nicotinamida Adenina Dinucleótido Fosfato
NO - Oxido Nítrico
PO₂ - Pressão de Oxigênio
PAF - Fator de Agregação Plaquetária
PCR - Proteína C Reativa
RL - Radicais Livres
SOD - Superóxido Desmutase
TCLE - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TNF- α - Fator de Necrose Tumoral
UI - Unidade Internacional
UNIFESP – Universidade Federal de São Paulo
VO₂ máx – Consumo Máximo de Oxigênio

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Análise descritiva da caracterização dos nossos sujeitos

Tabela 2 - Análise descritiva do teste ergoespirométrico realizado até a exaustão voluntária máxima.

Tabela 3. Concentração Plasmática de IL-2 e IL-6

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Percentual de Saturação de hemoglobina

Gráfico 2. Frequência Cardíaca

Gráfico 3. Percepção Subjetiva de Esforço

Gráfico 4. Concentração Plasmática de IL-1ra

Sumário

| | |
|---|-----------|
| 1 - INTRODUÇÃO | 14 |
| 2 – MÉTODO | 20 |
| 2.1 - Aspectos éticos | 20 |
| 2.2 - Critérios de inclusão..... | 20 |
| 2.3 - Testes cardiovasculares | 20 |
| 2.4 - Desenho experimental | 20 |
| 2.5 - Determinação do $VO_{2\text{máx}}$ e Limiar anaeróbio | 21 |
| 2.6 - Simulação da altitude | 22 |
| 2.7 - Oxímetro de Pulso..... | 22 |
| 2.8 – Frequência cardíaca | 22 |
| 2.9 – Percepção subjetiva de esforço..... | 23 |
| 2.10 - Coletas de Sangue | 23 |
| 2.11 - Determinação dos parâmetros plasmáticos | 23 |
| 2.11.1 Citocinas: IL-1ra, IL-2, IL-6..... | 23 |
| 2.12 - Análise estatística | 23 |
| 3. RESULTADOS..... | 24 |
| 4.DISSCUSSÃO | 29 |
| 5.CONCLUSÃO..... | 35 |
| 6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 36 |
| APÊNDICE I..... | 45 |
| APÊNDICE II | 46 |

1 - INTRODUÇÃO

Há pouco mais de 100 anos, em 1893, foi publicado o primeiro artigo relatando alterações encontradas em células do sistema imunológico no sangue após a prática de exercício físico. No entanto, até o início da década de 1970 foi pouco expressiva a produção científica relacionando exercício e sistema imune, porém, a partir dessa época, houve aumento exponencial dos trabalhos nesse campo (SHEPARD, 2010). O crescimento da produção dos conhecimentos na área de imunologia do exercício a partir da metade da década de 70, associada ao elevado desenvolvimento tecnológico, permitiu a investigação mais ampla dos efeitos do exercício em algumas áreas fundamentais, a saber, no estudo das causas de infecções de vias aéreas superiores que ocorrem em atletas submetidos a esforços extenuantes, no estudo do exercício como modelo de estresse e no estudo da influência do exercício crônico como resposta adaptativa frente a situações de estresse (SHEPARD, 2010). De acordo com Walsh, *et al.* (2011), a intensidade, a duração e a frequência do exercício exercem um papel chave na determinação da resposta imune durante e após o exercício, sendo esta resposta altamente dependentes da habilidade dos leucócitos em migrarem do sangue para os tecidos periféricos em locais de inflamação. A migração, quimiotaxia, ativação e adesão dos leucócitos compreendem o clássico paradigma do recrutamento dos leucócitos durante e após o exercício (PATEL *et al.*, 2000).

Os leucócitos estão presentes no sangue para serem transportados da medula óssea ou do tecido linfóide até as áreas do corpo onde são necessários. Quando liberados pela medula óssea, a meia-vida dos granulócitos é normalmente de 4 a 8 horas no sangue e de mais 4 a 5 dias nos tecidos. Na presença de infecção tecidual grave, esse tempo de sobrevivência total quase sempre diminui para algumas horas, visto que os granulócitos dirigem-se rapidamente para a área infectada, desempenham sua função e nesse processo, são destruídos (GUYTON e HALL, 2001).

O exercício, notadamente o de baixa intensidade, parece ser benéfico para a resposta imune, pois, melhora a função de diversas células tais como linfócitos, monócitos, neutrófilos e células NK, diminui a incidência de infecções oportunistas e acelera o processo de cura (WALSH *et al.* 2011).

Ao contrário, existem diversas evidências demonstrando que o exercício extenuante está associado a efeitos adversos sobre a resposta imune levando à imunossupressão (BASSIT *et al.*, 2000; NIEMAN, 1997). Estas alterações são confirmadas por diversos estudos

epidemiológicos em seres humanos, demonstrando aumento de infecções no trato respiratório superior (NIEMAN *et al.*, 1990; PETERSEN E PEDERSEN, 2006) e em estudos clínicos com animais, demonstrando que o exercício intenso após a inoculação de um patógeno pode promover aparecimento mais freqüente de infecções e maior fatalidade (CHAO *et al.*, 1992). São descritas 2 hipóteses, não excludentes, para explicar o efeito imunomodulador do exercício físico e do treinamento, bem como a imunossupressão após sessões extenuantes de exercício e períodos de treinamento (COSTA ROSA, 2004). A primeira hipótese diz respeito ao papel dos hormônios de estresse na modulação da resposta imune durante e após uma sessão de exercício físico já que esses hormônios, tais como a catecolaminas e o cortisol, sofrem grande influência do exercício físico enquanto que a segunda hipótese diz respeito ao papel da glutamina como substrato energético para células do sistema imunológico (ROSA NETO *et al.*, 2010).

Tais efeitos do exercício sobre o sistema imune e seus possíveis moduladores dizem respeito as observações realizadas em condições adequadas, com temperatura e umidade controladas em níveis considerados termoneutros e pressão barométrica similar ao nível do mar. Por outro lado, a realização de exercício físico em condições ambientais extremas, notadamente em hipóxia, pode gerar uma resposta aguda ao exercício diferente da gerada quando o exercício é realizado ao nível do mar (MAZZEO, 2008).

Altitudes elevadas (acima de 3000m) são potentes agentes estressores conhecidos por alterar funções fisiológicas e metabólicas na busca de mecanismos para tentar restabelecer a homeostase quebrada pela hipóxia (MAZZEO *et al.*, 1994). Diversos estudos demonstram que, a exposição aguda ou crônica à altitudes entre 2500 e 5000m resultam em uma resposta simpático-adrenal exacerbada levando a inúmeras outras alterações metabólicas (MAZZEO *et al.*, 1994) que, por sua vez, poderiam influenciar várias sistemas fisiológicos incluindo o sistema imunológico (MAZZEO *et al.*, 1995; MAZZEO *et al.*, 2000), levando a um quadro transitório de imunossupressão (MAZZEO, 2005)

Além disso, vários estudos demonstram que, a hipóxia aguda resulta em um aumento no número e atividade das células NK (PEDERSEN e STEENBERG, 2002).

Mais recentemente tem sido sugerido que a permanência em altitude de 4000m com elevação da concentração plasmática de IL-6, IL-1ra e PCR pode inclusive, resultar no desenvolvimento do edema pulmonar induzido pela elevada altitude (HARTMANN *et al.*, 2000).

Em relação ao exercício físico na hipóxia, poucos e contraditórios estudos avaliaram o

efeito do exercício agudo na condição de hipóxia sobre o sistema imunológico (MAZZEO, 2008). O exercício físico realizado em condições de hipóxia/elevada altitude representa uma condição de estresse adicional em relação ao exercício realizado ao nível do mar (MAZZEO, 2005). Esta condição se dá, até mesmo, quando a intensidade do exercício for relativa, ou seja, levando em conta que o VO_2 máximo e o desempenho diminuem à medida que a altitude aumenta (MAZZEO, 2005).

Além disso, parte dos efeitos do exercício sobre o sistema imune na hipóxia se deve a relação que existem entre a produção de Espécies Reativas de Oxigênio (ERO's) e a função imunológica, pois a influência do estresse oxidativo sobre células do sistema imune tem sido amplamente descrita. (HALLIWELL, 1994) A produção de EROs tem sua origem no metabolismo aeróbio, sendo portanto dependente da disponibilidade de oxigênio. Dentre os principais tipos de ERO's pode ser destacado o superóxido, os radicais hidroxila, óxido nítrico e ácido hipoclorito, e são produzidos por diversas células e tecidos, principalmente por eosinófilos, neutrófilos e células endoteliais (HALLIWELL, 1994).

As EROs, também conhecidas como radicais livres (RL), são moléculas altamente energizadas que contêm um ou vários elétrons não pareados em seu orbital atômico (HALLIWELL, 1994). O estresse oxidativo é uma condição celular ou fisiológica de elevada produção de EROs que causa danos moleculares às estruturas celulares, com consequente alteração funcional e prejuízo das funções vitais em diversos tecidos e órgãos, tais como músculo, fígado, rim, coração e tecido adiposo (BARJA, 1992; GOLDFARB, 1993; DRÖGE, 2002). Os danos musculares causados pelo estresse oxidativo estão relacionados com a diminuição do desempenho físico, fadiga muscular e lesão celular, principalmente nos músculos ativos durante o exercício (KONING *et al.*, 2001), podendo resultar em última instância nas alterações do sistema imune (VIDER *et al.*, 2001). Todavia, apesar dos seus efeitos pouco desejados quando produzidos em elevadas taxas, que podem resultar em eventos nocivos, como apoptose de células saudáveis, envelhecimento precoce, alteração de função celular como aparecimento de doenças crônico-degenerativas tais como aterosclerose, câncer, doenças de Alzheimer e de Parkinson entre outras (FERREIRA *et al.*, 1997), em pequenas quantidades as EROs podem ser de extrema importância, como na ativação do sistema imunológico e na resposta inflamatória (FERREIRA *et al.*, 1997).

Em condições normais, os efeitos do estresse oxidativo são controlados pelo corpo, com um sofisticado sistema de defesa antioxidante, que é composto por um conjunto de compostos químicos e enzimas capazes de neutralizar ou estabilizar os radicais livres

(BAILEY e DAVIES; 2001).

O estresse oxidativo pode ser benéfico nos casos de infecção, quando ocorre produção de EROs por células fagocitárias para destruir microorganismos invasores. Passa a ser prejudicial, todavia, quando a inflamação se torna sistêmica, como na *sepsis*, em que a perda de controle da produção de EROs pode causar lesão à distância (HURST *et al.*, 2009). Nesse momento, ocorre a liberação de uma gama de citocinas como o Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF- α) e a interleucina -1 beta (IL-1 β) que estimulam intensa resposta celular, com liberação de mediadores secundários como outras citocinas, fatores do complemento, prostanoídes, fator de agregação plaquetária (PAF), espécies reativas de oxigênio como o óxido nítrico (NO), quimiotaxia e ativação de granulócitos. Os mediadores secundários ficam responsáveis pela reativação das células fagocitárias e da cascata inflamatória formando um ciclo vicioso. Além disso, ajudam a promover vasodilatação sistêmica contribuindo para a hipotensão refratária a vasoconstritores, hipoperfusão tecidual, estresse oxidativo e lesão tecidual e orgânica (SOUZA, *et al.* apud BONE, 1991; HANNA, 2003; PEREIRA JUNIOR *et al.*, 1998). Além disso, sua presença no organismo torna a homeostasia fisiológica irregular. Os radicais livres passam a ter um efeito prejudicial ao nosso organismo quando ocorre um aumento excessivo na sua produção (VANUCHI *et al.*, 1998).

Acredita-se que, mesmo na presença de grande número de mecanismos potentes de defesa antioxidante, dentro das células, muitas vezes, os fatores oxidantes podem superar tais defesas e determinar lesões teciduais por meio das membranas lipídicas de células e organelas, a desnaturação funcional (enzimas) de proteínas estruturais, lesões mutagênicas ou letais dos ácidos nucleicos e a desnaturação de componentes polissacarídeos de componentes do interstício de membranas basais (BULKLEY, e STADMAN, apud VANNUCCHI H. *et al.* 1998). Além de seu efeito citotóxico, atuam como mensageiros das vias de sinalização intracelular das células inflamatórias (HURST *et al.*, 2009).

O exercício extenuante está associado ao aumento de gerações de EROs, possivelmente devido ao significativo aumento do consumo de O₂ pelos tecidos em atividade (COOPER *et al.*, 2002; CAZOLLA *et al.*, 2003; ZOPPI *et al.*, 2003). Alguns trabalhos demonstraram que a quantidade de EROs nos tecidos aumenta após exercícios agudos e que esse aumento coincide com a presença de danos teciduais (BLOOMER e GOLDFARB, 2004). Em contrapartida, o exercício de intensidade moderada altera positivamente a homeostase oxidativa das células e tecidos, pode diminuir a produção de EROs e aumentar as defesas antioxidantes (NIESS *et al.*, 1999; DI MEO e VENDITTI, 2001; COOPER *et al.*,

2002). Podendo ser, portanto de grande benefício à saúde.

No entanto, evidências recentes sugerem que estes mecanismos de defesa antioxidantes são, em certa medida, sobrecarregados durante uma subida às grandes altitudes. Estudos indicam claramente um aumento do risco de lesões por estresse oxidativo durante um exercício em condição de altitude (BAILEY *et al.*, 2000).

A realização de um exercício na hipóxia resulta muito frequentemente, em dano oxidativo maior do que o observado ao nível do mar devido à produção de EROs mais elevada do que a capacidade de sua neutralização (COMIER, 1977; SCHWARZ, 1972).. Nesse sentido, muito embora a pressão de oxigênio ao nível do mar pareça ser favorável à menor produção de EROs, evidências indicam que a exposição à elevada altitude, ou seja acima de 2500m está associada ao aumento em dano celular por estresse oxidativo. Tais observações chamam a atenção para a importância que substâncias potencialmente antioxidantes podem ter para atenuar os efeitos da hipóxia sobre o estresse oxidativo durante um exercício.

Durante a realização de um exercício físico agudo em elevada altitude (3000m), a vitamina E pode ser importante graças a sua capacidade de estabilização de membrana celular. Além disso, a vitamina E atua como co-fator para enzimas oxidativas contribuindo para a produção de energia pelo metabolismo aeróbio além de apresentar propriedade imunoprotetoras (COMIER, 1977; SCHWARZ, 1972). A vitamina E é uma vitamina lipossolúvel que age na bicamada lipídica impedindo a propagação da peroxidação lipídica (JONES, 1985). Estudos demonstram que essa vitamina pode ser usada de forma profilática na prevenção e tratamento de algumas das mudanças degenerativas que ocorrem na exposição à hipóxia. Durante a hipóxia o dano celular pode aumentar como uma sequência das alterações na oxidação e redução potencial (JONES, 1985) podendo ocasionar sonolência, apatia, fadiga mental e muscular, por vezes cefaléia, ocasionalmente náuseas e distúrbios cognitivos (GUYTON e HALL, 2001). Além disso, o sistema não apenas enzimático, mas o não-enzimático (destacando a vitamina E alfa-tocoferol) é afetado pela exposição à elevada altitude (IMAI *et al.*, 1995; CHAO *et al.*, 1999).

A exposição intermitente à elevada altitude tem características similares à isquemia/reperfusão (IR) (RADAK *et al.*, 1997). O fenômeno isquemia/reperfusão é um importante fator no processo de produção de EROs, pois pode ocorrer após um trauma ou durante um exercício físico. Durante o exercício o fluxo de sangue é desviado para os músculos em atividade, enquanto outros tecidos podem sofrer uma hipoxia temporária, que

após o exercício, recebem uma grande quantidade de oxigênio o que pode favorecer a formação de EROs (FINALD *et al.*, 2006).

Há um grande número de investigações a respeito dos efeitos da exposição à elevada altitude no sistema antioxidante, no entanto, os resultados parecem variar consideravelmente (DOSEK, 2007). Recentemente foi demonstrado que 6 meses da exposição intermitente à elevada altitude (4000 m) resultaram em uma diminuição da enzima Superóxido Desmutase (SOD) mitocondrial no músculo sóleo e tibial de roedores (RADAK *et al.*, 1994). Segundo os autores o nível diminuído de SOD sugere que a exposição intermitente à elevada altitude afetou a transcrição da enzima e expressão do seu RNAm. Tais resultados foram confirmados posteriormente por Nakanishi *et al* (1995), que encontraram, em uma altitude simulada de 5500m, nível sérico de SOD aumentado e níveis diminuídos no fígado e nos pulmões dos roedores. A atividade da enzima glutathione peroxidase (GPX), outra enzima importante para a neutralização das EROs também diminuída no fígado, sugerindo que o fígado possa sofrer destacada sensibilidade à elevação da altitude e do esforço oxidativo (NAKANISHI *et al.*, 1995). SCHIMIDT *et al.*, (2002) aplicaram uma solução antioxidante, contendo a vitamina E, beta-caroteno, ácido ascórbico, selênio, *N*-acetil cisteína-1, catequina, luteína e licopeno para tentar reduzir o estresse oxidativo causado pela exposição á elevada altitude. Neste trabalho roedores receberam a suplementação com vitamina E (40 mg/kg), durante 5 dias antes e durante do período de exposição hipóxia de 7576 m, isso reduziu significativamente o aumento da peroxidação lipídica induzida pela altitude.

Tendo em vista que tem crescido o número de pessoas que são expostas a elevadas altitudes, seja por motivos profissionais, turísticos ou pessoais, a compreensão dos efeitos agudos e crônicos da suplementação com vitamina E, sobre a relação entre sistema imune, e estresse oxidativo durante um exercício moderado realizado em elevada altitude (4200m) se faz de grande importância.

Objetivo geral:

Avaliar os efeitos da suplementação de vitamina E sobre a função imune durante exercícios físicos agudos em elevada altitude simulada

Objetivos Específicos:

- a) Avaliar os efeitos da suplementação sobre o desempenho do indivíduo.
- b) Analisar os marcadores de inflamação.

2 – MÉTODO

2.1 - Aspectos éticos

Este projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP) - Hospital São Paulo (CEP – 0620/09). Para participar, os voluntários receberam todas as informações relativas ao estudo, inclusive a respeito das avaliações, assinando posteriormente um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Os riscos e desconforto para os voluntários foram mínimos uma vez que todos os exercícios foram realizados seguindo as normas internacionais, e com relação aos desconfortos estes também foram mínimos no que diz respeito ao exercício físico e a coleta de sangue.

2.2 - Critérios de inclusão

Participaram deste estudo 07 voluntários do gênero masculino, saudáveis, fisicamente ativos e com idades entre 18 a 30 anos.

2.3 - Testes cardiovasculares

Após assinarem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido todos os voluntários foram submetidos a um eletrocardiograma de repouso e esforço para avaliação clínica e autorização para a prática de exercício físico.

2.4 - Desenho experimental

Os voluntários compareceram ao laboratório em 5 dias e intervalo de 1 semana entre

cada dia. No primeiro dia todas as informações relativas ao projeto foram dadas tais como objetivos e procedimentos a que os voluntários seriam submetidos nos dias subsequentes. Ao final das explicações os voluntários tomaram ciência do Termo de Consentimento e estando de acordo com o estudo o assinaram. Após a assinatura, os voluntários foram submetidos ao eletrocardiograma de repouso e esforço. No segundo dia, os voluntários foram submetidos a um teste com intensidades progressivas até a exaustão voluntária para determinação do consumo máximo de oxigênio ($\text{VO}_2 \text{ max}$) e do limiar anaeróbio ao nível do mar. No terceiro dia, os voluntários realizaram uma sessão de exercício, , ao nível do mar, sem suplementação de vitamina E. No quarto dia, os voluntários realizaram uma sessão de exercício sem suplementação de vitamina E. No quinto dia receberam uma dose única de vitamina E (250 mg) 1 hora antes do exercício. Os exercícios realizados no, quarto e quinto dia foram realizados em uma altitude simulada de 4200m.

2.5 - Determinação do $\text{VO}_{2\text{máx}}$ e Limiar anaeróbio

Os testes foram realizados em uma esteira ergométrica (*LifeFitness*[®] – 9700HR). O protocolo adotado para o teste de carga progressiva até a exaustão voluntária máxima foi o de incrementos de velocidade de 1 km/h a cada minuto, sendo a carga inicial para aquecimento de três minutos a 7 km/h. O teste foi encerrado quando o voluntário atingiu a exaustão voluntária máxima. Essa exaustão foi definida como a incapacidade em acompanhar a velocidade da esteira por 15 segundos, ou até que os voluntários solicitem a parada do teste mesmo sendo encorajados (Sassi *et al.*, 2006). Durante todo o teste foi utilizada uma inclinação fixa de 1% para simular o desgaste físico em locais abertos (JONES e DOUST, 1996).

Durante todos os testes, a monitoração da frequência cardíaca foi realizada por meio de um freqüencímetro (Polar, modelo Advantage NV) com intervalos de 5 segundos, a pressão arterial também foi monitorada por meio de um esfigmomanômetro e um estetoscópio. Também foi verificada pela escala de percepção subjetiva de esforço, tal escala proposta por Gunnar Borg varia de 6 a 20. Os testes foram realizados em laboratório com climatização padronizada.

Os parâmetros respiratórios foram coletados e analisados respiração a respiração por um analisador de gases COSMED modelo Quark PFT – Pulmonary Function Testing – FRC

& DLCO e o limiar anaeróbio foi determinado de acordo com protocolo de Wasserman e Koike (1992). O sistema foi calibrado pelo menos uma vez ao dia, antes da realização do primeiro teste. Para isso uma concentração de gases conhecidas foi utilizada, sendo que as calibrações do volume e do fluxo foram realizadas com o auxílio de uma seringa de três litros. Uma máscara facial Hans Rudolph® flow-by face mask (Kansas City, MO, EUA), foi utilizada. Todos os procedimentos para calibração foram realizados de acordo com as recomendações do fabricante.

2.6 - Simulação da altitude

Os voluntários foram submetidos a três sessões de exercício agudo segundo um protocolo adaptado a partir do estudo de Hagobian *et al.*, (2006). Os voluntários realizaram os exercícios com intensidade equivalente a 70% da velocidade do limiar ventilatório 1 durante 60 minutos, em altitude simulada de 4200m. Todos os exercícios foram realizados após jejum de três horas, para evitar possíveis influências alimentares.

2.7 - Oxímetro de Pulso

Em repouso e imediatamente após e depois de uma hora do final do exercício, e em cada uma das sessões de exercício foi avaliada de maneira não invasiva a saturação de oxigênio. Essa medida foi mensurada através de um oxímetro de pulso que consiste em um método simples que tem como principal objetivo fornecer uma estimativa de saturação arterial de oxigênio da hemoglobina, ou seja, a porcentagem de sítios de ligação de hemoglobina que estão ocupados a qualquer momento por um de oxigênio (LUKS E SWENSON, 2011).

2.8 – Frequência cardíaca

Em repouso, e a cada 20 minutos de exercício durante o teste, a monitoração da frequência cardíaca foi realizada por meio de um freqüencímetro (Polar®, modelo FS1).

2.9 – Percepção subjetiva de esforço

A determinação dessa variável foi realizada durante o exercício por uma escala de classificação subjetiva das intensidades relativas de esforço (BORG, 1973).

2.10 - Coletas de Sangue

Em repouso e imediatamente após e depois de uma hora do final do exercício, e em cada uma das sessões de exercício foram coletados 10 µl de sangue venoso. O sangue foi armazenado em tubos contendo 100 ml de heparina de sódio (125 UI) até a centrifugação. Após a coleta, 10 ml de sangue foram centrifugados a 690 X g durante 15 minutos a 4 °C, sendo o plasma extraído, aliquoteado para dosagens

2.11 - Determinação dos parâmetros plasmáticos

2.11.1 Citocinas: IL-1ra, IL-2, IL-6, foram determinados por Kits da R&D System

2.12 - Análise estatística

Os resultados foram expressos em média \pm desvio padrão. A análise estatística foi realizada por análise de variância de duas vias (Anova two way) seguida de pós-teste de Tukey com nível de significância fixo em $p < 0,05$.

3. RESULTADOS

Tabela 1. Análise descritiva da caracterização dos nossos sujeitos

| Características dos sujeitos | Média \pm DP |
|------------------------------|-------------------|
| Idade (anos) | 24,00 \pm 3, 87 |
| Massa (Kg) | 71,21 \pm 12,77 |
| Estatura (cm) | 173,86 \pm 4,56 |
| IMC (Kg/m ²) | 23,59 \pm 3,75 |

Valores apresentados em Média \pm DP, referente a 07 voluntários.

Tabela 2. Análise descritiva do teste ergoespirométrico realizado até a exaustão voluntária máxima.

Os valores estão apresentados em média \pm desvio padrão. O consumo máximo de oxigênio está apresentados como valores absolutos (litros/minutos) e em valores relativos (considerando massa corporal total). Além disso, são apresentados os valores referentes ao limiar ventilatório 1 e 70% da velocidade desse parâmetro.

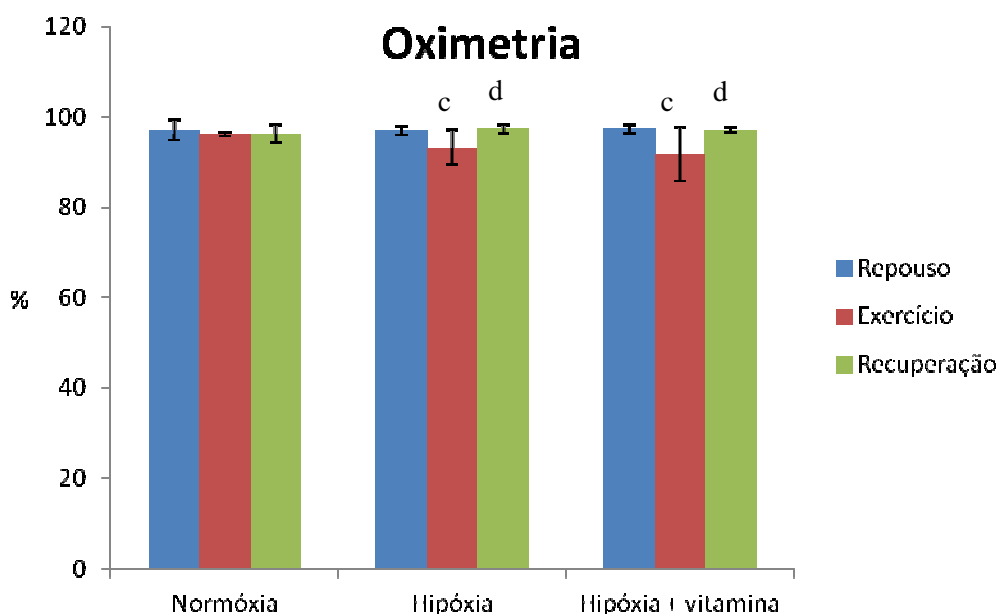
| Variáveis | Média \pm DP |
|---|------------------|
| VO₂ pico (ml.kg.min⁻¹) | 46,39 \pm 5.62 |
| VO₂ pico (L.min) | 3,27 \pm 0,40 |
| L1 (Km/hr) | 9,99 \pm 1,66 |
| 70% L1 (Km/hr) | 7 ,11 \pm 1,33 |

Valores apresentados em Média \pm DP, referente a 07 voluntários

Gráfico 1. Percentual de Saturação de Hemoglobina

Com relação à oximetria os resultados estão demonstrados na figura 1. Não houve diferença nos três momentos (repouso, exercício e recuperação) na condição de normóxia. Já no exercício realizado na condição de hipóxia observamos que houve uma significativa diminuição na oximetria no final do exercício em relação aos valores de repouso ($p < 0,05$).

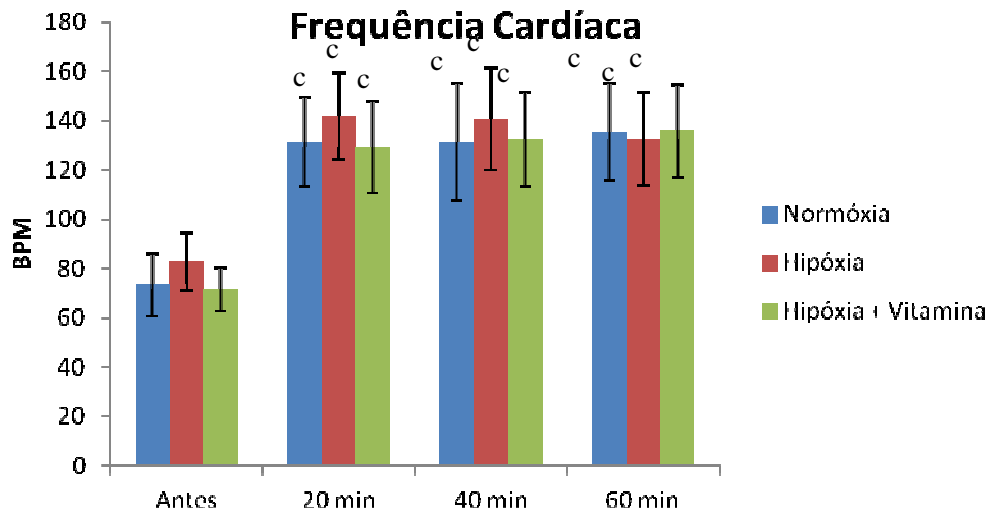
Após uma hora de recuperação a oximetria foi significativamente maior em relação aos valores no final do exercício ($p < 0,05$). Quando os voluntários foram suplementados com vitamina E observamos comportamento semelhante ao observado na condição hipóxia sem suplementação, com diminuição da oximetria ao final do exercício em relação ao valor pré-exercício e aumento em relação ao valor encontrado ao final do exercício ($p < 0,05$ respectivamente).



Percentual de saturação de hemoglobina em repouso (barras azuis), final do exercício (barras vermelhas) e 1 hora após o exercício (barras verdes) nas condições normóxia, hipóxia e hipóxia + vitamina para um $n = 7$ voluntários. Valores expressos em % e representam em Média \pm DP. $p < 0,05$; “c” diferente em relação ao valor de repouso na mesma condição; “d” diferente em relação ao valor no final do exercício na mesma condição.

Gráfico 2. Frequência Cardíaca

Com relação à frequência cardíaca observamos significativo aumento no vigésimo minuto nas três condições estudadas em relação aos valores de repouso ($p < 0,05$), comportamento similar foi encontrado aos 40 e 60 minutos como demonstrado na figura 2. Já a percepção subjetiva de esforço não foi modificada estatisticamente em qualquer das situações estudadas (figura 3).



Frequência cardíaca em normóxia (barras azuis), hipóxia (barras vermelhas) e hipóxia suplementado com vitamina E (barras verdes) nas condições normóxia, hipóxia e hipóxia + vitamina para um $n = 7$ voluntários. Valores expressos em Batimentos Por Minuto (BPM) e representam Média \pm DP. $p < 0,05$; "c" diferente em relação ao valor de repouso na mesma condição.

Gráfico 3. Percepção Subjetiva de Esforço

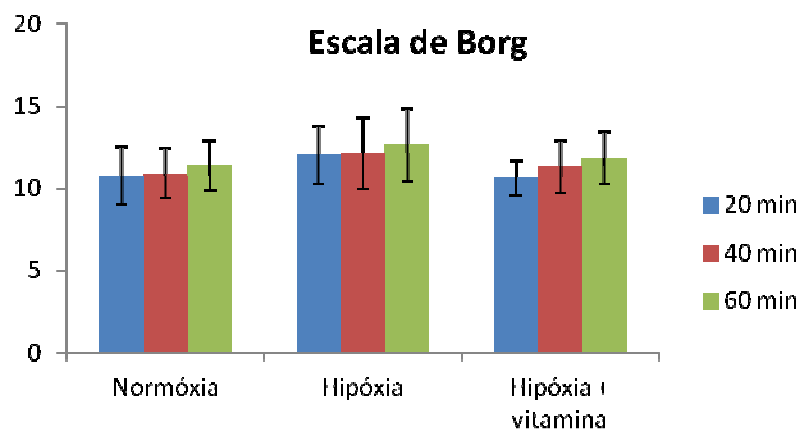
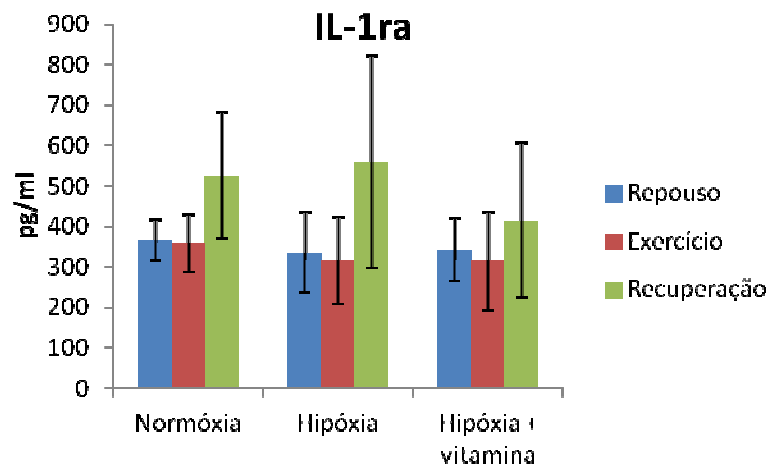


Figura 3 – Percepção subjetiva de esforço no 20º minuto (barras azuis), 40º minuto (barras vermelhas) e 60º minuto (barras verdes) nas condições normóxia, hipóxia e hipóxia + vitamina para um $n = 7$ voluntários. Valores estão expressos em Média \pm D

Gráfico 4. Concentração Plasmática de IL-1ra

Na análise de IL-1ra nos três momentos (repouso, exercício e recuperação), não houve diferenças significativas nas três condições (normóxia, hipóxia e hipóxia + vitamina) como mostrado na figura 4.



Concentração plasmática de IL-1ra em repouso (barras azuis), ao final do exercício (barras vermelhas) e 1 hora após o exercício (barras verdes) nas condições normóxia, hipóxia e hipóxia + vitamina para um $n = 7$ voluntários. Valores expressos em pg/ml e representam Médias \pm DP.

Tabela 3. Concentração Plasmática de IL-2 e IL-6

A concentração de IL-2 foi significativamente menor após a suplementação com vitamina E em repouso em relação às outras duas condições ($p < 0,05$) (tabela 1). Além disso, houve aumento de IL-6 em repouso após a suplementação em comparação à condição hipóxia ($p < 0,05$), houve também aumento de IL-6 1 hora após o final do exercício em relação ao repouso e normóxia. Em hipóxia houve aumento de IL-6 ao final do exercício e após 1 hora de descanso em relação ao repouso ($p < 0,05$). Todos os resultados para IL-6 estão mostrados na tabela 3.

Tabela 3. Concentração plasmática de IL-2 e IL-6

| | Normóxia | Hipóxia | Hipóxia vitamina |
|------------|----------------------|----------------------|-----------------------|
| IL-2 Rep | 3,19 ± 1,17 | 2,94 ± 2,44 | 0,86 ± 0,96 ab |
| IL-2 Exerc | 4,25 ± 1,65 | 2,39 ± 1,67 | 1,90 ± 2,18 |
| IL-2 Recup | 4,13 ± 2,62 | 2,44 ± 3,00 | 1,33 ± 1,12 |
| IL-6 Rep | 1,06 ± 0,44 | 0,95 ± 0,30 | 3,04 ± 2,57 b |
| IL-6 Exerc | 2,71 ± 1,55 | 2,66 ± 0,70 c | 3,32 ± 3,71 |
| IL-6 Recup | 3,06 ± 0,89 c | 1,99 ± 0,65 c | 3,19 ± 2,23 |

Concentração plasmática de IL-2 e IL-6 em repouso, ao final do exercício) e 1 hora após o exercício, nas condições normóxia, hipóxia e hipóxia + vitamina para um $n = 7$ voluntários. Valores expressos em pg/ml e representam Média ± DP. $p < 0,05$; “a” diferente em relação à normóxia, “b” diferente em relação à hipóxia, “c” diferente em relação ao valor de repouso na mesma condição.

4.DISSCUSSÃO

A condição de normóxia é definida como a tensão de oxigênio (PO_2) no ar inspirado suficiente e adequada para manter o metabolismo aeróbio e a homeostase nos vários tecidos (PARK *et al.*,1992) O transporte de oxigênio entre o ar inspirado e a sua utilização pelos tecidos passa por várias etapas, ao longo das quais a PO_2 vai se reduzindo até que as moléculas deste gás possam ser efetivamente utilizadas como oxidante final, na cadeia respiratória das cristas mitocondriais. Qualquer comprometimento, em alguma destas fases, que possa diminuir o aporte de oxigênio a determinado tecido, em níveis críticos, resultará em hipóxia e provocará metabolismo anaeróbio, acidose láctica, lesão celular, hipercalemia e falência de tecidos e órgãos que é frequente em situação de hipóxia. (IAZZETTI *et al.*, 1992).

Fez se de grande importância a monitoração da oximetria em nosso protocolo, uma vez que monitoração da saturação de O_2 na hemoglobina por intermédio da oximetria fornece informações acerca do comprometimento da capacidade de transporte de O_2 provocada pela hipóxia e é uma das primeiras modificações observadas após a chegada de seres humanos em regiões de altitude elevadas. Quando realizado exercício em hipóxia observamos que houve uma significativa diminuição na saturação de O_2 na hemoglobina no final do exercício em relação aos valores de repouso. Após uma hora de recuperação a oximetria foi significativamente maior em relação aos valores no final do exercício. Ao serem suplementados com vitamina E observamos um comportamento semelhante ao encontrado na condição hipóxia sem suplementação. Com diminuição da saturação de O_2 na hemoglobina ao final do exercício em relação ao valor pré-exercício e aumento em relação ao valor encontrado ao final do exercício respectivamente. Nossos resultados demonstram que apenas 1 hora de exposição à hipóxia simulando altitude de 4200m já foi suficiente para promover a diminuição da saturação de O_2 na hemoglobina o que estão de acordo com a literatura (MCARDLE *et al.*,1998), confirmando, portanto a condição hipóxica na qual os voluntários foram submetidos.

Essa modificação é acompanhada por modificações cardiovasculares e respiratórias com o intuito de responder à situação hipóxica. As adaptações cardiovasculares em exposição a hipóxia desencadeia um aumento da atividade do sistema nervoso autônomo simpático, promovendo o incremento da frequência cardíaca(MIRRAKHIMOV *et al.*, 1996)

A adaptação do sistema cardiovascular à altitude é variável, dependendo da predisposição individual e taxa de subida, mas segue um padrão bastante reprodutível, caracterizada por um débito cardíaco normal em repouso, mas uma diminuição do débito

cardíaco máximo, e uma diminuição do volume sistólico em todas as circunstâncias. Durante o exercício há aumento do débito cardíaco, que é resultante dentre outros motivos do aumento da frequência cardíaca. É consenso de que em exercícios com sobrecarga retangular há aumento da frequência no início do exercício e durante a realização há uma manutenção. O que foi confirmado em nossos achados na condição de normóxia. Outros dados encontrados por nós demonstram que na exposição aguda a hipóxia há aumento da frequência cardíaca no início do exercício seguido pelo platô até o final do exercício confirmando estudo anterior de Rupwate, *et al.* (1990). Porém em condição de normóxia e hipóxia as variações foram semelhantes; isso remete avaliar os o modelo de exercício aplicado quanto à intensidade e duração já que a respeito da maior intensidade que o exercício representa na condição de hipóxia esse aumento não foi suficiente para fazer com que o comportamento da FC fosse diferente na condição de normóxia e hipóxia.

Exercício intenso aumenta a geração de radicais livres e espécies reativas de oxigênio EROs, através de várias vias, incluindo a fosforilação oxidativa, aumento de catecolaminas, o metabolismo prostanóides, xantina oxidase, e NADPH. Neutrófilos e macrófagos migram para o local da contração induzida por lesão muscular infiltrada no tecido muscular, e ativa a liberação de citocinas, com conseqüente produção de ERO (BRATON, 2002). A maioria das EROs são neutralizadas por um sofisticado sistema de defesa antioxidante composta de uma variedade de enzimas e antioxidantes não-enzimáticos, incluindo vitamina A, E, e C, glutathione, ubiquinona e flavonóides (URSO, 2003). A vitamina E funciona basicamente como um antioxidante, que impede a propagação da peroxidação lipídica, (FND, 2000). Ela desempenha um papel importante na manutenção da função imune, mediando a imunidade humoral e celular (BEHARKA, 1997).

Quando uma subida em grandes altitudes é confrontada com o estresse do exercício físico as respostas fisiológicas e metabólicas são exacerbadas. E cada vez mais evidente que as respostas do sistema nervoso simpático estão associadas com a exposição em altitude podendo influenciar as adaptações fisiológicas e metabólicas incluindo a função imune (MAZZEO, 1994 *et al.* MAZZEO, 2001). Em conjunto com as respostas da medula adrenal, e o sistema nervoso central está associado a imunossupressão de células imunocompetentes, a mobilização de células T e células NK, e a regulação da produção e liberação de citocinas (KLOKKER *et al.* , 1995, PEDERSEN 2002) O exercício representa um esforço adicional, que quando combinado com a hipóxia pode resultar em um impacto mais acentuado sobre a função imunológica.

Mais proeminente é a redistribuição dos linfócitos T com uma redução notável no número de células CD4 + bem como diminuição na ativação e proliferação de células T. Além disso, os níveis de linfopenia e neutrofilia em exposição a hipóxia aguda é bastante semelhante ao observado em resposta a uma única sessão de exercício. (THAKE, *et al.*, 2004) O exercício realizado em condição de hipóxia apresenta-se como um estresse biológico agressivo induzindo adaptações fisiológicas agudas e crônicas uma vez que, a hipóxia assume um modelo de agressão ao organismo de total relevância. Na exposição a esse ambiente o organismo tende a gerar respostas para minimizar os efeitos deletérios da diminuição da quantidade de oxigênio disponível para os tecidos ocorrendo adaptações nos diversos sistemas: respiratórios, e circulatório, na regulação hormonal e hídrica, nos componentes hematológicos e na morfologia e metabolismo muscular, entre outras e tenta contrariar os efeitos fisiológicos da rarefação de moléculas de oxigênio para os tecidos (BROOKS *et al.*, 1991; ENGFRED *et al.*, 1994; HOPPELER, 1999; HOWALD *et al.*, 1990).

Nós demonstramos que no nosso protocolo de exercício promoveu em situação de hipóxia resultou em um aumento de IL-6 de cerca de 150% durante o exercício e 100% em relação aos valores anteriores ao exercício mesmo na condição de recuperação já em normóxia confirmando estudos anteriores. De fato, Klausen *et al.* (1997) e MAZZEO *et al.* (2008) examinaram a influência da hipóxia aguda em seres humanos, em repouso e durante o exercício e encontraram níveis de IL-6 significativamente aumentada, enquanto outras citocinas pró-inflamatórias permaneceram inalterados. Anteriormente ainda, MAZZEO, *et al.* (2001) demonstraram níveis de IL-6 foram elevados durante o exercício (50 minutos de exercício com intensidade moderada) em exposição altitude aguda, provavelmente devido a resposta exagerada de adrenalina associada com exposição inicial à hipóxia.

O significado fisiológico da resposta à hipóxia da IL-6 não é completamente conhecido, no entanto, uma série de possibilidades tem sido proposta. Tem sido sugerido que a IL-6 pode promover a angiogênese (MOTRO *et al.*, 1990). Que é a formação de novos vasos a partir de vasos existentes melhorando a distribuição sanguínea nos tecidos. Sendo que em condição de hipóxia é um fator somatório para estimulação da angiogênese capilar (PRIOR *et al.*, 2004), pois a redução da pressão de O₂ estimula a expressão e consequentemente a proliferação de células do VEGF que é um potente fator de crescimento endotelial induzido por exercício responsável pela proliferação das células e também sua sobrevivência (PRIOR *et al.*, 2004). Além disso, a IL-6 pode modular a produção de eritropoietina (EPO) podendo resultar em um estímulo para a produção em até 81% de EPO na condição de hipóxia

(FAQUIN, *et al.* 1992). Em um estudo realizado por Huang *et al.*, (2008) a reação da EPO foi aumentada dentro de algumas horas. Lembrando que ela atenua a apoptose, tem efeitos protetores contra a isquemia-reperfusão através de um modulador de radicais livres e mediador anti-inflamatório.

Assim, os resultados em exposição a altitude aguda apresenta elevado os níveis de IL-6 em seres humanos em repouso podem ser responsáveis em parte pela inflamação clássica observada após a exposição à hipóxia como descrito por Eltzsching e Carmeliet (2011).

A formação de espécies reativas de oxigênio EROs é uma consequência do metabolismo aeróbico, desde que sistemas de geração do número de EROs são criados no corpo. Na verdade, são EROs modulares naturais e fisiológicos. Supõe-se geralmente que a aumentos no metabolismo aeróbico geram aumento dos níveis de EROs em hipóxia, causando e dano oxidativo a lipídios, proteínas e DNA (BAILEY *et al.* 2001a; BAILEY e DAVIES, 2001b).

O estresse oxidativo é definido como o aumento das espécies reativas de oxigênio (EROs) e falta de substâncias antioxidantes que são capazes de neutralizá-los. O transporte de elétrons associados à cadeia respiratória mitocondrial é considerada como o processo importantes para a produção de EROs em repouso e também durante o exercício (DI MEO, 2001). Quando produzida em excesso, exerce efeitos prejudiciais e são capazes de danificar macromoléculas celulares como DNA, lipídios ou proteínas. Além disso, também é mostrado que a exposição à altitude elevada diminui a atividade e a eficácia do sistema de enzimas antioxidantes (MAITI, 2006). Portanto, o estresse oxidativo aparece como um resultado da produção EROs em grande altitude.

Vários sistemas de defesa antioxidante enzimática e não enzimática estão presentes nas células para proteger as membranas celulares e organelas outros dos efeitos nocivos de reações de radicais livres (EVANS, 2000).

Vitamina E (-tocoferol) é encontrada em praticamente todas as membranas celulares, mas ela está ligada principalmente a membrana interna mitocondrial, no sítio do sistema de transporte de elétrons. Deficiência de vitamina E, que é o principal antioxidante nas membranas celulares, aumenta a susceptibilidade a danos dos radicais livres. (GOHIL, 1986).

Nosso trabalho foi o primeiro a avaliar os efeitos da suplementação com vitamina E durante o exercício na condição de hipóxia simulando altitude de 4200m. Nossos resultados demonstram que em relação a IL-6, durante o exercício e depois de uma hora de recuperação as modificações foram integralmente revertidas pela suplementação de vitamina E. Assim,

nossos resultados *in vivo* confirmam estudo prévio de Lin *et al.* que desenvolveram um modelo computacional para prever a concentração de diversas citocinas após suplementação de vitamina E, indicando um possível papel antiinflamatório da vitamina E.

Em um trabalho realizado por Steensberg (2003) demonstrou os efeitos anti-inflamatórios da IL-6 que também são demonstrados pelo fato dela estimular a produção de cortisol, IL-1ra e IL-10 (STEENBERG, 2003) confirmando os resultados encontrados uma hora após o exercício na condição de hipóxia.

O conceito de que a IL-1ra atua como uma molécula anti-inflamatória foi sugerido primeiramente por estudos que mostram a inibição da síntese de um amplo espectro de citocinas pró-inflamatórias por células da linhagem monocítica (PETERSEN, 2005). A IL-1ra é um membro da família IL-1 que se liga a receptores de IL-1 bloqueando a sinalização para inflamação desencadeada pela IL1. Estudos têm demonstrado que a IL-1ra também é uma proteína de fase aguda (GABAY, 1997), pois em culturas de hepatócitos humanos e a linhagem de células humanas HepG2 produz IL-1ra em resposta à estimulação com IL-6. (PETERSEN, 2005)

O aparecimento IL-1ra na circulação após o exercício também contribui para mediar os efeitos inflamatórios do exercício agudo (PETERSEN, 2005). Em nosso estudo observamos que o aumento de IL-6 durante o exercício foi suficiente para provocar um aumento tardio de IL-1ra após uma hora de recuperação da ordem de 70% sugerindo uma rápida resposta o organismo para tentar garantir um melhor balanço pró/antiinflamatório. Já quando os indivíduos foram suplementados com 250mg de vitamina E observamos que a manutenção da concentração de IL-6 como discutido anteriormente foi acompanhada pela manutenção da concentração de IL-1ra confirmando que de fato a vitamina E, na dose usada em nosso estudo foi capaz de prevenir a resposta inflamatória induzida pelo exercício associado à hipóxia.

A IL-1 amplifica a ativação de células T, induzindo a IL-2 e a expressão do gene receptor (IL-2R) de IL-2. (SHEPHARD, 1996) devido à sua capacidade de ativar linfócitos e o sistema imune inata e adaptativa, seus papéis indiretos no processo inflamatório, e sua relevância para os vários indutores de inflamação ainda estão sendo descritos. (GILMAN, 1997) A IL-2 é o principal fator de crescimento e de diferenciação de linfócitos T, sendo utilizada quando há necessidade de defesa por essas células (UCHAKINS *et al.*, 1995).

A IL-2 é uma proteína de 133 aminoácidos glicosilada produzida principalmente pelas

células T. Ela induz a proliferação de monócitos receptivos, e também estimula o crescimento e diferenciação das células B (TSUDO, 1984). IL-2 ativa os linfócitos T em seu estado quiescente e sob estimulação mitogênica ou antigênica. LEWICKI, 1984 mostraram que, quando 11 homens treinados fizeram um teste incremental até a exaustão (tempo médio de 20 minutos), foi estimulado a liberação de IL-2. Já em um trabalho realizado por PESPERSEN, *et al.* (1999) eles foram capazes de medir os níveis de IL-2 plasma. Não encontraram nenhuma mudança imediatamente após o exercício, mas plasma níveis de IL-2 aumentou significativamente em relação ao início 24 horas após o exercício. O que em parte correlaciona com os nossos achados onde a concentração de IL-2 foi significativamente menor após a suplementação com vitamina E em repouso em relação às outras duas condições (normóxia e hipóxia). Além disso nossos resultados demonstram que na hipóxia, mesmo a breve exposição realizada em nosso estudo foi suficiente para promover uma diminuição de aproximadamente 17% enquanto que quando realizaram o exercício na condição de hipóxia e foram suplementados com vitamina E houve aumento de 54%, aumento esse que superior até ao ocorrido quando o exercício foi realizado em normóxia que foi de aproximadamente 30%. O comportamento da IL-2 quando os voluntários foram suplementados sugerem o possível papel da vitamina E protegendo a uma das principais formas de organização da resposta imune que é dependente de níveis normais de IL-2.

5.CONCLUSÃO

A partir do discutido acima, podemos concluir que o exercício físico de intensidade moderada realizado em condição de hipóxia exacerba os efeitos imunossupressores de uma sessão aguda de exercício e enquanto que a suplementação com vitamina E na dose usada em nosso estudo foi eficiente em preservar o sistema imunológico do estresse associado entre o exercício físico e a hipóxia simulando altitude de 4200m.

6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAILEY, D.M. *et al.*, Elevated plasma cholecystokinin at high altitude: metabolic implications for the anorexia of acute mountain sickness? **High Altitud Medicine and Biology**, v.1, n. 9, p.23-23, May. 2000.

BAILEY D.M. DAVIES B. Acute Mountain Sickness; Prophylactic Benefits of Antioxidant Vitamin Supplementation at High Altitude; v. 2, n.1, p. 21-29. Mar. 2001.

BULKLEY, G. B. Free radicals and order reactive oxygen metabolites: Clinical relevance and the therapeutic efficacy of antioxidant therapy. **Surgery**, v. 113, p. 479-483, 1993. Apud VANNUCCHI H. *et al.* Papel dos nutrientes na peroxidação lipídica e no sistema de defesa antioxidante **Medicina Ribeirão Preto** v. 31, p. 31-44, Jan./Marc. 1998 Disponível em: http://www.fmrp.usp.br/revista/1998/vol31n1/papel_nutrientes_peroxidacao_lipidica.pdf
Acesso: 23/09/2011

BARJA Q.G Brawn fat thermogenesis and exercise: two examples of physiological oxidative stress? Free Radic **Biologic Medicine**, v. 13, n. 325, p. 40-40, oct. 1992.

BONE, R. C. The pathogenesis of sepsis. **Annals of Internal Medicine**, v. 115, n. 6, p. 457-469, 1991 apud SOUZA F.F.S. *et al.* Uso de antioxidante na sepse: uma nova abordagem terapêutica Disponível em: http://www.unieuro.edu.br/downloads_2005/farmacia/cenarium_03_06.pdf
Acesso em 23/09/2011

BASSIT, R.A. *et al.*, The effect of BCAA Supplementation upon the immune response of triathletes. **Medicine Science Sports Exercise**, U.S. A., v. 32, p. 1214 – 1219, Jul. 2000.

BLOOMER R.J; GOLDFARB A.H. Anaerobic exercise and oxidative estress: a review. Canadian Journal of Applied Physiology, v. 29, n. 3, p. 245-263, Apr. 2004.

BRATON, L. J., *et al.*, Contraction-induced muscle damage is unaffected by vitamin E supplementation. **Medicine Science Sports Exercice**, v. 34, n. 5, p.798-805, 2002.

BEHARKA, A., S. REDICAN, L. LEKA, and S. N. MEYDANI. Vitamin E status and immune function. **Methods Enzymology**. v. 282, p. 247-263, 1997

BAILEY, D.M., DAVIES, B., Acute mountain sickness; prophylactic benefits of antioxidant vitamin supplementation at high altitude. **High Altitude Medicine Biology** v. 2, n. 1, p. 21–29. 2001b.

BAILEY, D.M., *et al.*, Potential role for free radical-mediated skeletal muscle soreness in the pathophysiology of acute mountain sickness. **Aviation Space Environmental Medicine**. v. 72, n. 6, p. 513–521, jun. 2001a.

BROOKS GA, *et al.*, Increased dependence on blood glucose after acclimatization to 4300 m. *Journal Applied Physiology* v. 70 n. 2, p. 919–927, fev. 1991.

CHANG C.K. *et al.*, Interaction of vitamin E and exercise training on oxidative stress and antioxidant enzyme activities in rat skeletal muscles. **Journal Nutritional Biochemistry**, v. 18, n.1, p. 39-45, jan. 2007.

CHAO, W.H. *et al.*, Oxidative stress in humans during work at moderate altitude. **Journal Nutrition**, v. 129, n. 11, p.2009–2012, Nov. 1999.

CHAO, C.C. *et al.*, Effects of swimming exercise on the pathogenesis of acute murine *Toxoplasma gondii* Me 49 infection. **Clinical Immunology Immunopathology**, v. 62, n.2, p.220-226, 1992.

COOPER, C.E. *et al.*, Exercise free radicals and oxidative stress. **Biochemical Society Transactions**, England, v. 30, n.5, p. 280-280, Apr, 2002.

CORMIER, M. Regulatory mechanisms of energy needs: Vitamins in energy utilization. *Prog. Food Nutrition Science*, England, v. 2, n. 7, p. 347-356, Apr. 1977.

COSTA ROSA, L.F. Exercise as a Time-conditioning Effector in Chronic Disease: a Complementary Treatment Strategy. **Evidence Based Complementary Alternative Medicine** v. 1, n. 1, p. 63-70, jun.2004.

ROSA L.B.P. e VAISBERG, M.W. **O médico e a orientação do exercícios**. In: Vaisberg, M. Org.. *O exercício como terapia na prática médica*. São Paulo: Ed. Artes Médicas, p. 1-4, São Paulo.2005.

CAZZOLA R. *et al.*, Biochemical assessment of oxidative stress erythrocyte membrane fluidity and antioxidant status in professional soccer players and sedentary controls. **European Journal Clinical Investigation**, England, v. 33, n. 10, p. 924-30, May.2003.

DI MEO S, VENDITTI P. Mitochondria in exercise-induced oxidative stress. **Biological Signals Recept**, Itália, v. 10, n. 1, p. 125-140, Jan/Apr.2001

DRÖGE W. Free radicals in the physiological control of cell function. **Physiology Reviews**, Bethesda, MD, v. 82, n. 1, p. 47-95, Jan. 2002.

DINARELLO C.A. The biological properties of interleukin-1. **European Cytokine Netw**, v. 5, n. 6, p. 517-31, nov/dez. 1994.

DOSEK A , *et al.*, High altitude and oxidative stress. **Respiratory physiology and neurobiology**, Hungary, v. 30, n. 2, p. 128-131, Sep.2007.

PESPERSEN GT, ELBAEK A, Ernst E, *et al.* Effect of physical exercise on cytokines and

lymphocyte subpopulations in human peripheral blood. **APMIS**, v. 98, n. 5, p. 395-400, mai. 1990.

ENGFRED K, *et al.*, Hypoxia and training-induced adaptation of hormonal responses to exercise in humans. **European J Applied Physiology Occupational Physiology**, v. 68, n. 4, p. 303-309, 1994.

FINALD J.LAC G.FILAIRE E. Oxidative stress relationship with exercise and training **Sports Medicine** v. 36, n. 4, p. 327-358, 2006

FOOD AND NUTRITION BOARD, INSTITUTE OF MEDICINE. Dietary Reference intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids. Washington, DC: National Academy Press, 2000, pp. 186-217.

FAQUIN, W.C., T.J. SCHNEIDER, AND M.A. GOLDBERG. Effect of inflammatory cytokines on hypoxia-induced erythropoietin production. **Blood** v. 79, n. 8, p. 1987-1994, apr, 1992.

FERREIRA A.L.A.; MATSUBARA, L.S. Radicais livres: conceitos doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 43, n. 1, p. 61-68, Jan./Mar. 1997.

FRANCOIS-VIAULT GILBERT Apud WHEATLEY K, CREED M, MELLOR A. Haematological Changes at **Altitude Journal R Army Med Corps** v. 1, n. 157, p. 38-42

FAQUIN, W.C., T.J. SCHNEIDER, AND M.A. GOLDBERG. Effect of inflammatory cytokines on hypoxia-induced erythropoietin production. **Blood**. v. 79, n. 2, p. 1987-1994, 1992.

GREEN H. J. *et al.*, Operation Everest II: adaptations in human skeletal muscle. **Journal Applied Physiology**, v. 66, p. 2454-2461, 1989.

GILMAN-SACHSA, DUCHATEAU B. Clinical relevance of chemokines [abstract]. **Clinic Immunology Newsl**, v. 17 n. 7, p. 93, 1997.

GUYTON A., HALL J.. Tratado de Fisiologia Médica, 9ª ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2001

GABAY C, *et al.*, Interleukin 1 receptor antagonist (IL-1Ra) is an acute-phase protein. **Journal Clinic Invest**, v. n. 99, p. 2930–2940, 1997.

GOHIL K, *et al.*, Vitamin E deficiency and vitamin C supplements: exercise and mitochondrial oxidation. **Journal Applied Physiology** 1986;60:1986–91

HALLIWELL B. Free radicals and antioxidants: a personal view. **Nutrition Reviews**, v. 52, n. 1, p. 253–265, Aug. 1994.

HALLIWELL B, AND GUTTERIDGE J.M.C. Free radicals, other reactive species and disease. Apud: Free Radicals in Biology and Medicine, 3ª ed. B. Halliwell and J.M.C. Gutteridge, eds. **Oxford University Press**, UK, p. 617–783, 1999.

HANNA, N. **Sepsis and septic shock. Topics in Emergency Medicine**. V.25, n.2, p. 158-165, 2003. apud SOUZA F.F.S. *et al.* Uso de antioxidante na sepse: uma nova abordagem terapêutica

Disponível em: http://www.unieuro.edu.br/downloads_2005/farmacia/cenarium_03_06.pdf

Acesso em 23/09/2011

HARTMANN G, TSCHOP M, FISCHER R, et al. High altitude increases circulating interleukin-6, interleukin-1 receptor antagonist and C-reactive protein. **Cytokine** v. 12, p. 246-52, 2000

HAGOBIAN, TA *et al.*, Cytokine responses at high altitude: effects of exercise and antioxidants at 4300m. **Medicine Science Sports Exercise**, v. 38, n. 2, p. 276 - 285, Feb. 2006

HOWALD H, *et al.*, . III. Effects of chronic hypoxia on muscle enzyme activities*. **International Journal Sports Medicine**, v. 11, n. 4, p. 10-14, 1990.

HOPPELER H (1999). Vascular growth in hypoxic skeletal muscle. *Adv Exp Med Biol* 474: 277-286

HURST S.M., *et al.*, Exercise-induced elevation in plasma oxidative generating capability augments the temporal inflammatory response stimulated by lipopolysaccharide. **European Journal of Applied Physiology**, New Zealand, v. 107, n. 1, p.61-62, Sep. 2009.

HUANG, H.H *et al.*, Oxidative stress and erythropoietin response in altitude Exposure, **Clinic Invest Medicine** v. 31, n. 6, December. 2008.

IMAI, H. *et al.* Selenium levels and glutathione peroxidase activities in blood in an andean high-altitude population. **Journal of Nutrition Science and Vitaminology**, Tokyo, v. 41, n. 3, p.349–361, Jun.1995.

IAZZETTI PE e MANTOVANI M. Hiperoxia hiperbárica em infecções graves e sepse – Conceitos e perspectivas. **Medicina, Ribeirão Preto**, 31: 412-423, jul./set. 1998.

JONES, D. P. The role of oxygen concentration in oxidative stress: Hypoxic and hyperoxic models. In: **Oxidative Stress** Sies, H., Academic Press, London, England, p. 151-195, 1985.

KAPPUS, H. Lipid peroxidation: Mechanisms, analysis, enzymology and biological relevance. In: **Oxidative Stress** (Sies,H.,ed.), Academic Press, London, England. p. 273-310,1985.

KLOKKER, M. *et al.*, Natural killer cell response to exercise in humans: effect of hypoxia and epidural anesthesia. **Journal Applied Physiology**. v. 78, p. 709-716, 1995.

KLAUSEN, T., N.V. Olsen, T.D. Poulsen, J.P. Richalet, and B.K. Pedersen. Hypoxemia increases serum interleukin-6 in humans. **European Journal Applied Physiology Occupational**. v. 76, p. 480-482, 1997.

KONING D, *et al.*, Exercise and oxidative stress: significance of antioxidants with reference to inflammatory, muscular, and systemic stress. **Exercise immunology Review**, Germany, v. 7, p. 108-133, Apr.2001

LUKS, A.M SWENSON, E.R. Pulse oximetry at high altitude. **High altitude medicine e biology**, v. 12, n. 2, p. 109-119, Mar. 2011

LEIBOVITZ, B. E. & SIEGEL, B. V. Aspects of free radical reactions in biological systems: Aging. **Journal of Gerontology**. v. 35, n. 1, p. 45-56, Jan. 1980.

LEWICKI R, *et al.*, Effect of maximal physical exercise on T-lymphocyte subpopulations and on interleukin 1 (IL 1) and interleukin 2 (IL 2) production *in vivo*. **Int Journal Sports Medicine**, v. 9, p. 114-117, 1988.

MAZZEO, R.S. *et al.*, Interleukin-6 response to exercise and high-altitude exposure: Influence of α -adrenergic blockade. **Journal Applied Physiology**, v. 91, n. 8, p. 2143-2149, 2001.

MOTRO, B., *et al.*, Pattern of interleukin 6 gene expression in vivo suggests a role for this cytokine in angiogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 87:3092-3096, 1990.

MATSUDO S.M.M, MATSUDO V.K.R. Prescrição de exercícios e benefícios da atividade física na terceira idade. **Revista Brasileira de Ciência e Movimento**, v. 5, n.4, p. 19-30, 1992

MAITI, P., *et al.*, Hypobaric hypoxia induces oxidative stress in rat brain. **Neurochem. International**. v. 49, p. 709-716, 2006.

MAZZEO, RS; *et al.*, Sympathetic responses during 21 days at high altitude (4,300 m) as determined by urinary and arterial catecholamines. **Metabolismo**, v. 43, p. 1226 – 1232, 1994.

MAZZEO, RS. Physiological responses to exercise at altitude: an update. **Sports Med** 38: 1 - 8, 2008.

MATTEUWS C.E, *et al.* Moderate to vigorous physical activity and risk of upper-respiratory tract infection. **Medicine and Science Sports Exercise**, Columbia, v.34, n. 8, p.1242-1248, Aug. 2002.

MIRRAKHIMOV MM, WINSLOW RM, The cardiovascular system at high altitude. In: Fregly MJ and Blatteis CM (Eds) **Handbook of physiology: Environmental physiology** New York: Oxford University Press, v. 2, n. 4, p. 1241- 1258, 1996.

MCARDLE, Willian D., KATCH, Frank I., KATCH, Victor L. **Fisiologia do Exercício. Energia, Nutrição e Desempenho Humano**. 4 ed. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 1998

MOTRO, B., *et al.*, Pattern of interleukin 6 gene expression in vivo suggests a role for this cytokine in angiogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 87:3092-3096, 1990.

NORTHOFF H, BERG, A. Immunologic mediator as parameters of the reaction to strenuous exercise. *Int Journal Sports Medicine*. n. 12, n. 1, p. 9-15, 1991.

NAKANISHI, K. *et al.* Antioxidant system in hypobaric- hypoxia. **Journal Physiology**, v. 489, n. 3, p. 869–876, 1995.

NIEMAN, D.C; *et al.* Infections episodes in runners before and after the Los Angeles Marathon. **Journal of Sports Medicine of Physical Fitness**, v. 30, n. 3, p. 316 - 328, Sep.1990.

NOGUEIRA-MARTINS, M. C. F.; BÓGUS, C. M. Considerações sobre a metodologia qualitativa como recurso para o estudo das ações de humanização em saúde. **Saúde e Sociedade**, v. 13, n. 3, p. 44-57, set-dez. 2004. Disponível em: < <http://www.scielo.org/pdf/sausoc/v13n3/06.pdf>>. Acesso em: 19 junho. 2011.

NIEMAN, D.C. Immune response to heavy exertion. **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, v. 82, n. 5, p. 1385 - 1394, May.1997.

NIESS AM, *et al.* Free acid and oxidative stress in exercise-immunological aspects **Exercise Immunology Review**, Germany, v. 5, p. 22-56, 1999.

PACKER, L. Vitamin E, physical exercise and tissue damage in animals. **Medicine Biology**, v. 62, p. 105-109, 1984.

PATEL KD, Cuvelier S, Wiehler L. Selecting critical mediators of leukocyte recruitment **Seminary Immunology**, Canada, v. 14, n. 2, p. 73-81, Apr. 2002.

PEDERSEN BK, *et al.*, The metabolic role of IL-6 produced during exercise: is IL-6 an exercise factor? *Proc Nutritional Society* v. 63, p. 263-267, 2004.

PEREIRA JÚNIOR, *et al.*, A. Fisiopatologia da sepse e suas implicações terapêuticas. *Medicina Ribeirão Preto*. V.31 p. 349-362, 1998 apud SOUZA F.F.S. *et al.* Uso de antioxidante na sepse: uma nova abordagem terapêutica Disponível em: http://www.unieuro.edu.br/downloads_2005/farmacia/cenarium_03_06.pdf
Acesso em 23/09/2011

PEDERSEN, B.K. AND A. STEENBERG. Exercise and hypoxia: effects on leukocytes and interleukin-6-shared mechanisms? **Medicine Science Sports Exercise**, v. 34, p. 2004-2012, 2002.

PETERSEN, *et al.*, The anti-inflammatory effect of exercise. **Journal Applied Physiology**, v. 98, p. 1154–1162, 2005.

PRIOR, B. M.; YANG, H. T.; TERJUNG, R. L. What makes vessels grow with exercise training? **Journal of Applied Physiology**, v. 52, p. 1119-1128, 2004.

PARK MK; MYERS RAM & MARZELLA L Oxygen tensions and infections: modulation of microbial growth, activity of antimicrobial agents, and immunologic responses. **Clin Infect**, v.14, p. 720-740, 1992.

PEDERSEN, BK e HOFMANN-GOETZ, L. Exercise and immune system: regulation, integration, and adaptation. **Physiological Reviews**, Denmark, v. 80, n. 3, p. 1055-1081, Jul.2000.

PETERSEN, AM & PEDERSEN, BK. The anti-inflammatory effect of exercise. **Journal Applied Physiology**, v. 98, p. 1154-1162, 2006.

RADAK, Z. *et al.* Oxidative stress induced by intermittent exposure at a simulated altitude of 4000m decreases mitochondrial superoxide dismutase content in soleus muscle of rats. **European Journal of Applied Physiology Occupational Physiology**, v. 69, n. 5, p. 392–395, 1994.

RADAK, Z. *et al.* High altitude training increases reactive carbonyl derivatives but not lipid peroxidation in skeletal muscle of rats. **Free Radic. Biology Medicine**, v. 22, n. 6, p. 1109-1114, 1997.

RUPWATE RU, CHITALEY M, KAMAT SR. Cardiopulmonary functional changes in acute acclimatisation to high altitude in mountaineers. **European Journal Epidemiol**, v. 6, p. 266-72, 1990.

ROWBOTTOM D.G. GREEN KJ. Acute exercise affects on the immune system. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, Australia, v. 32, n. 7, p. 364-405, Jul. 2000.

SUBUDHI, A.W.*et al.* Changes in ventilatory threshold at high altitude: effect of antioxidants. . **Medicine and Science in Sports and Exercise**. U.S.A. v. 38, n. 8, p.1425–1431, Aug. 2006

SACHEK, J.M., BLUMBERG, J.B., Role of vitamin E and oxidative stress in exercise. **Nutrition**, n. 17, p.809-814, 2001

STEENSBERG A, IL-6 enhances plasma IL-1ra, IL-10, and cortisol in humans. **Am Journal Physiology Endocrinol Metabolism**, n. 285, p. 433–437, 2003.

SCHMID-SCHONBEIN, H. Blood rheology in hemoconcentration In: High altitude physiology and medicine (Brendel, W. e Zink, R. A., eds.), Springer Verlag, New York,NY, p. 109-116, 1982

SCHWARZ, K. The cellular mechanisms of vitamin E action: Direct and indirect effects of alpha-tocopherol on mitochondrial respiration. **Annals of the N.Y. Academy of Science**. v. 18, n. 203, p. 42-52, 1972

SILVA, S.M.C.S. MURA J.D.P. **Tratado de alimentação, nutrição e dietoterapia** 1º ed. Roca, São Paulo, v. 1, p. 26-27, 2007

SCHNEIDER, C.D. OLIVEIRA A.R. Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismo de formação e adaptação ao treinamento físico. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, São Paulo, v. 10, n. 4, p 308-313, 2004

STADMAN, E. R. Protein oxidation and aging. **Science**, v. 257, p. 1220-1224, 1992 apud VANNUCCHI H. *et al.* Papel dos nutrientes na peroxidação lipídica e no sistema de defesa antioxidante **Medicina Ribeirão Preto** v. 31, p. 31-44, Jan./Marc. 1998 Disponível em: http://www.fmrp.usp.br/revista/1998/vol31n1/papel_nutrientes_peroxidacao_lipidica.pdf Acesso: 23/09/2011

SIMON-SCHNASS, I. e KORNISZEWSKI, L. The influence of vitamin E on rheological parameters in high altitude mountaineers. **International Journal of Vitamin and Nutrition Research**, v. 60, n. 1, p. 26-34, Aug. 1990

SHEPHARD RJ, SHEK PN. Physical activity and immune changes: a potential model of subclinical inflammation and sepsis. **Crit Rev Rehab Phys Med** 1996; 8 (3): 153-81

SHEPHARD RJ. Development of the discipline of exercise immunology. **Exerc Immunol Rev**. v. 16, p. 194-222, 2010.

TAPPEL, A. L. Vitamin E and free radical peroxidation of lipids. **Annals of the N.Y. Academy of Science**, v. 18, n. 203, p. 12-28, Dec. 1972

THAKE, C.D. *et al.*, Leukocyte counts and neutrophil activity during 4 h of hypocapnic hypoxia equivalent to 4000 m. **Aviat. Space Environ. Med.** 75:811-817, 2004

TSUDO M, UCHIYAMA T, UCHINO H. Expression of the Tac antigen on activated normal human B cells. **J Exp Med** 1984; 160: 612-7

TURNBULL, AV e RIVIER, CI. Regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis by cytokines: actions and mechanisms of action. **Physiological Reviews**, California, v. 79, n. 1, p. 1-71, Jan. 1999

Uchakin PN, *et al.*, Neuroimmuno humoral changes associated with altitude training (abstr). **Medicine Science Sports Exercise** v. 27, p. 174, 1995.

URSO, M. L., AND P. M. CLARKSON. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. **Toxicology** 189:41-54, 2003.

WASSERMAN, K E KOIKE, A. Is the anaerobic threshold study anaerobic **Chest** v. 101, n. 5, p. 2115 – 2185, 1992

WALSH NP, *et al.*, Position statement. Part one: Immune function and exercise. **Exercise Immunology Rev**. v. 6. p. 6-63, 2011.

VANNUCCHI H. *et al.* Papel dos nutrientes na peroxidação lipídica e no sistema de defesa antioxidante **Medicina Ribeirão Preto** v. 31, p. 31-44, Jan./Marc. 1998 Disponível em: http://www.fmrp.usp.br/revista/1998/vol31n1/papel_nutrientes_peroxidacao_lipidica.pdf

Acesso: 23/09/2011

VANCINI R.L. *et al.* Radical livre estresse oxidativo e exercício. **Centro de Estudos de Fisiologia do Exercício UNIFESP**. São Paulo, 2005. Disponível em <<http://www.centrodeestudos.org.br/pdfs/oxidativo.pdf>> Acesso em 19 abr 2009

VIDER J. *et al.* Acute immune response in respect to exercise-induced oxidative stress. **Pathophysiology**, Estonia, v. 7, n. 4, p. 263-270, Mar. 2001

ZOPPI C.C. *et al.* Alterações de biomarcadores em estresse oxidativo, defesa antioxidante e lesão muscular em jogadores de futebol durante uma temporada competitiva. **Revista Paulista de Educação Física**, São Paulo, v. 17, p. 119-30, Abr. 2003.

Apêndice

4. APÊNDICE I

6.1 Termo de Consentimento livre e Esclarecido

Título do projeto

Efeitos de uma sessão aguda de exercício moderado realizado em diferentes altitudes sobre parâmetros metabólicos e imunológicos.

6.2 Desenho do estudo e objetivo(s)

Essas informações estão sendo fornecidas para sua participação voluntária neste estudo, que visa avaliar se a realização de exercícios em altitudes diferentes tem efeitos diferentes sobre o sistema imunológico e o metabolismo.

6.3 Descrição dos procedimentos que serão realizados, com seus propósitos e identificação dos que forem experimentais e não rotineiros

Todos os voluntários serão submetidos a: (I) um teste ergométrico na esteira para autorização de participação do estudo, (II) 4 sessões de exercício agudo na esteira, em ambiente que simule as altitudes de nível do mar, 1500m, 3000m e 4500m. Antes e imediatamente após cada sessão de exercício será retirado 10 ml de sangue para dosagens sanguíneas e 3 ml de saliva para avaliação substâncias que podem indicar os efeitos do exercício e da altitude sobre o sistema imunológico.

6.4 Relação dos procedimentos rotineiros e como são realizados

O voluntários comparecerão ao laboratório em 6 dias e intervalo de 1 semana entre cada dia. O primeiro dia todas as informações relativas ao projeto serão dadas tais como objetivos e procedimentos a que os voluntários serão submetidos nos dias subsequentes. Ao final das explicações os voluntários tomarão ciência do Termo de Consentimento e estando de acordo com o estudo o assinarão. Após a assinatura os voluntários serão submetidos ao eletrocardiograma de repouso e esforço que consistirá de um exercício com intensidade crescente simultaneamente às coletas dos registros do eletrocardiograma, o exercício

começará com intensidade baixa até atingir a velocidade determinada. No dia 2 os voluntários serão submetidos a um teste com intensidades progressivas até a exaustão voluntária para determinação dos parâmetros ventilatórios durante o exercício e podermos determinar a velocidade de realização dos exercícios nos outros dias. No terceiro, quarto, quinto e sexto dia os voluntários realizarão uma sessão de exercício com duração de 60 minutos com velocidade constante nas altitudes de nível do mar, 1500m, 3000m e 4500m. Os voluntários deverão chegar com pelo menos 30 minutos de antecedência ao laboratório, onde ficarão aguardando em repouso até a realização dos testes. Nos dias dos exercícios simulando a situação de altitude, os voluntários serão expostos a situação de altitude somente durante a realização dos 60 minutos de exercício.

6.5 Descrição dos desconfortos e riscos esperados nos procedimentos dos itens 3 e 4

Os riscos para os voluntários são mínimos uma vez que todos os exercícios serão realizados seguindo as normas internacionais e com relação aos desconfortos estes também serão mínimos no que diz respeito ao exercício físico e a coleta de sangue. Com relação aos efeitos da altitude, como a exposição será por um período pequeno de tempo e os exercícios serão realizados em intensidades moderadas o voluntário não deverá sentir efeitos adversos. Após o final do exercício a recuperação será da mesma forma com uma ligeira sensação de cansaço devido a realização do exercício.

6.6 Benefícios para o participante

A partir dos resultados encontrados será possível avaliarmos a partir de qual altitude os efeitos do exercício se tornam prejudiciais para o sistema imunológico..

6.7 Garantia de acesso

Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é o Dr Ronaldo Vagner Thomatieli dos Santos que pode ser encontrado no CEPE, Rua marsehesa, 535 - Vila

Clementino. Telefone(s) (11) 5572-0177. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Botucatu, 572 – 1º andar – cj 14, 5571-1062, FAX: 5539-7162 – E-mail: cepunifesp@epm.br

6.8 Desistência da participação no estudo

É garantida a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição.

6.9 Direito de confidencialidade

As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros voluntários, não sendo divulgado a identificação de nenhum voluntário.

6.10 Atualização sobre os resultados parciais

Direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais das pesquisas, quando em estudos abertos, ou de resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores

6.11 Despesas e compensações

Não haverá em qualquer hipótese qualquer tipo de despesas ou compensações para os voluntários como retribuição pela participação no estudo.

6.12 Dano pessoal

Em caso de dano pessoal, diretamente causado pelos procedimentos ou tratamentos propostos neste estudo (nexo causal comprovado), o participante tem direito a tratamento médico na

Instituição, bem como às indenizações legalmente estabelecidas.

6.13 Compromisso do pesquisador de utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa

Todos o material coletado e todos os resultados coletados nesse estudo serão utilizados somente nessa pesquisa.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo: Correlação entre o lactato sanguíneo e salivar durante e imediatamente após diferente tipos de exercício.

Eu discuti com o Dr. Ronaldo Vagner Thomatieli dos Santos sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Assinatura do paciente/representante legal Data / /

Assinatura da testemunha

Data / /

Para casos de pacientes menores de 18 anos, analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

Data / /

Assinatura do responsável pelo estudo

APENDICE II**COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA****UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO/HOSPITAL SÃO PAULO**

São Paulo, 10 de Junho de 2009
CEP 0620/09

Ilmo(s). Sr(a).

Pesquisador(a) RONALDO VAGNER THOMATIELI DOS SANTOS

Co-Investigadores: Marco Túlio de Mello;

Disciplina/Departamento Medicina e Biologia do Sono da

Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo

Patrocinador Ausente

CARTA DE APROVAÇÃO E PARECER CONSUBSTANCIADO DO COMITÊ DE ÉTICA INSTITUCIONAL

Ref: Projeto de pesquisa intitulado:

'EFEITOS DE UMA SESSÃO AGUDA DE EXERCÍCIO MODERADO REALIZADO EM DIFERENTES ALTITUDES SOBRE PARÂMETROS METABÓLICOS E IMUNOLÓGICOS'

ÁREA TEMÁTICA ESPECIAL: Não há necessidade de envio à CONEP para análise

CARACTERÍSTICA DO ESTUDO: Intervenção diagnóstica

RISCO PACIENTE: Risco mínimo, desconforto moderado, envolvendo coleta de sangue

OBJETIVOS: Avaliar o efeito do exercício agudo moderado sobre a resposta imune em diferentes altitudes

RESUMO: Farão parte do estudo 15 pessoas do gênero masculino e fisicamente ativas, com idade entre 18 e 30 anos. Todos os voluntários serão submetidos a um eletrocardiograma de repouso e esforço para avaliação clínica e autorização para a prática de exercício físico. Os voluntários comparecerão ao laboratório em 6 dias e intervalo de 1 semana entre cada dia. Serão submetidos a ECG de repouso e esforço, teste com intensidades progressivas até a exaustão voluntária para determinação do consumo máximo de oxigênio e do limiar anaeróbio ao nível do mar. No terceiro, quarto, quinto e sexto dia,

realizarão uma sessão de exercício simulando as diferentes altitudes estudadas. Os voluntários realizarão os exercícios com intensidade de 60% do VO2 max durante 60 minutos simulando 4 altitudes distintas nível do mar, 1500m, 3000m e 4500m. Serão coletados sangue em repouso e imediatamente após o final do exercício, para determinação de: glutamina, glutamato, glicose, hormônios (cortisol, insulina e catecolaminas) e citocinas plasmáticas (IL-1, IL-6, IL-10 e TNF-alfa). Serão avaliados: células circulantes, proliferação de linfócitos, produção de citocinas e apoptose. Será coletada saliva para determinação de IgA.

FUNDAMENTAÇÃO RACIONAL: O exercício físico pode ser imunomodulador, estimulando ou inibindo a resposta imune. A hipóxia tem sido descrita como um potente agente imunossupressor, principalmente pela sua capacidade de aumentar a concentração de hormônios de estresse. Estudos sugerem que a hipóxia pode fazer com que os efeitos do exercício sobre a resposta imune sejam exarcebados de uma maneira dependente da altitude.

MATERIAL E METODO: Estão descritos os procedimentos e parâmetros a serem avaliados

TCLE: Adequado, contemplando a resolução 196/96

DETALHAMENTO FINANCEIRA: A apresentação do orçamento detalhado permitiu a análise econômica viabilizando assim, a realização do projeto.

CRONOGRAMA: 24 meses

OBJETIVO ACADÊMICO: Não envolve obtenção de título acadêmico

PRIMEIRO RELATÓRIO PREVISTO PARA: 15/06/2010, os demais relatórios deverão ser entregues ao CEP anualmente até o termino do estudo

O Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo ANALISOU e APROVOU o projeto de pesquisa referenciado.

1. Comunicar toda e qualquer alteração do projeto e termo de consentimento livre e esclarecido. Nestas circunstâncias a inclusão de pacientes deve ser temporariamente interrompida até a resposta do Comitê.

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO/HOSPITAL

São Paulo, 10 de Junho de 2009
CEP 0620/09

2. Comunicar imediatamente ao Comitê qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento do estudo.
3. . Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes.

Atenciosamente,



Prof. Dr. José Osmar Medina Pestana
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa da
Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo